

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ И КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ И ПОЧКАХ *Betula L.*

Г.В. Демина, Р.Ш. Хазиев, Р.В. Егорова

Аннотация

Целью работы явилось изучение содержания и качественного состава флавоноидов в листьях и почках *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh., произрастающих в разных местообитаниях. Качественный состав, количественное содержание и динамика накопления флавоноидов в листьях и почках *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh., произрастающих в Республике Татарстан, ранее не исследовались. В результате исследований выявлена динамика накопления флавоноидов в лекарственном сырье, описаны количественные и качественные составы флавоноидов, показаны отличия в содержании флавоноидов у *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh.. Установлено влияние условий естественного освещения на количественный состав флавоноидов. На качественный состав флавоноидов заметного влияния условий освещения не выявлено. Определены периоды максимального содержания флавоноидов в листьях и почках исследуемых видов. Показаны различия в содержании этих веществ в листьях и почках. Уточнены и рекомендованы оптимальные сроки заготовки лекарственного сырья.

Ключевые слова: флавоноиды, качественный состав, количественный состав, береза, листья, почки

Betula L. давно и широко использовалась человеком, как в хозяйственной деятельности, так и при лечении различных заболеваний.

В научной и народной медицине широко применяются настои и отвары листьев и почек *Betula L.* в качестве мочегонного, потогонного, желчегонного, противовоспалительного, дерматологического и вяжущего средства. Они обладают низкой токсичностью при достаточно высокой эффективности и комплексным органопротекторным действием на организм больного [1]. Сухой экстракт листьев березы входит в состав комплексного желчегонного препарата «Сибектан» [2].

В отечественной медицинской практике разрешено использование двух видов *Betula L.*: *Betula pendula* Roth. (синоним *Betula verrucosa* Ehrh.) – береза повислая (береза бородавчатая) и *Betula pubescens* Ehrh. (синоним *Betula alba* L.) – береза пушистая (береза белая).

Betula L. встречается практически на всей территории России, природные ресурсы ее неограниченны. В Татарстане *Betula pendula* Roth. растет на всей территории, образуя чистые березняки, березово-сосновые, смешанные леса. *Betula pubescens* Ehrh. Встречается преимущественно в северных районах

Предкамья и в Западном Закамье. Она приурочена в основном к местам с повышенной влажностью почвы [3].

Официальными видами сырья являются почки и листья *Betula L.* Почки стандартизируются по содержанию эфирного масла [4, 5]. Исследования последнего времени к действующим веществам почек березы относят также флавоноиды, по содержанию которых предлагается стандартизовать это сырье [6]. Действующими веществами листьев березы признаются флавоноиды, по содержанию которых и осуществляется стандартизация сырья [7, 8]. Согласно этой же нормативной документации, листья *Betula L.* следует заготавливать в период вегетации в июне-июле месяце.

К основным компонентам флавоноидного комплекса *Betula L.* относятся флавонолы гиперозид и рутин (гликозиды) в листьях и флаваноны пиностробин и пиноцембрин (агликоны) в почках [6].

Качественный состав, количественное содержание и динамика накопления флавоноидов в листьях и почках *Betula L.*, произрастающей в Татарстане, ранее не исследовались.

Целью нашей работы было изучение динамики накопления флавоноидов и изменения их качественного состава в ходе вегетации для видов *Betula L.*, произрастающих в Татарстане, а также влияния некоторых экологических факторов на эти процессы.

Сырье для исследований (листья) собиралось в период вегетации 2009 – 2011 гг. с мая по октябрь, через 30-31 день с 15-20 деревьев; почки были заготовлены 29-31 марта 2010-2011гг. Заготовки проводились в разных местообитаниях *Betula L.* на освещенных и затененных участках: биостанция КФУ, Ачинский лес, п.г.т. Камские Поляны, г. Казань (Вахитовский р-н), лесополоса вдоль трассы Р-241 (Казань – Ульяновск), лесополоса вдоль трассы Р-239 (Казань – Чистополь).

Количественное определение флавоноидов в листьях *Betula L.* проводили методом дифференциальной спектрофотометрии продуктов реакции флавоноидов с хлоридом алюминия, используя для расчетов удельный показатель поглощения комплекса рутина с хлоридом алюминия при длине волны 412 нм равный 248 [8].

Количественное определение флавоноидов в почках *Betula L.* проводили методом дифференциальной спектрофотометрии продуктов реакции флавоноидов с хлоридом алюминия в пересчете на лютеолин [6].

Изучение качественного состава флавоноидов листьев и почек *Betula L.* проводили методом двумерной бумажной хроматографии (бумага марки «Ленинградская М») в системах 15% уксусная кислота (первое направление) и н-бутанол – уксусная кислота – вода (БУВ) 4:1:2 (второе направление). Флавоноиды обнаруживали на хроматограммах просматривая их в УФ-свете при 254 и 360 нм до и после опрыскивания 3% раствором алюминия хлорида в этаноле.

Полученные результаты по динамике накопления флавоноидов в листьях *B. pendula* представлены на рисунке 1.

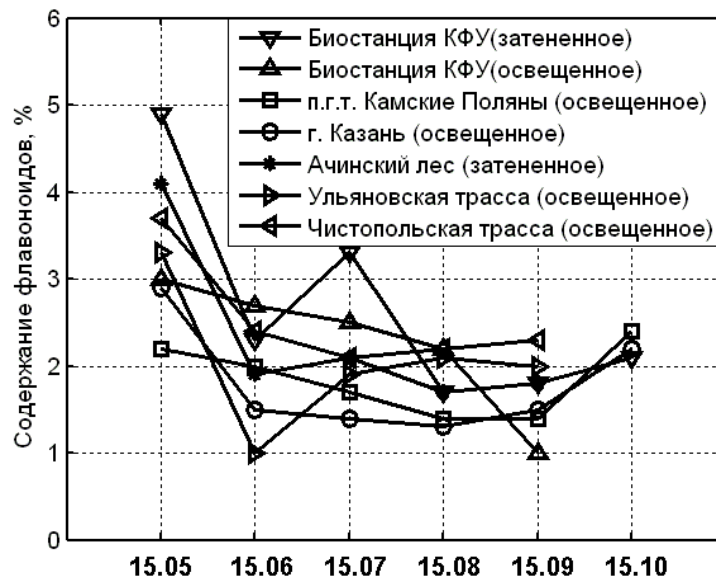


Рис 1. Содержание флавоноидов в листьях *B. pendula*

Максимальное содержание флавоноидов в листьях наблюдается у *Betula pendula*, произрастающей на территории биостанции (затененное местообитание) в мае месяце. Минимальное же содержание флавоноидов у *Betula pendula*, произрастающей в лесополосе вдоль трассы Р-241 в июне месяце. Четко выражена тенденция подъема содержания флавоноидов в листьях *Betula pendula* дважды за период вегетации в загрязненных местообитаниях (п.г.т. Камские поляны, г. Казань, автотрассы Р-241 и Р-239) – в мае и сентябре-октябре; и трижды в более экологически чистых местообитаниях (биостанция КФУ, Ачинский лес) – в мае, июле и сентябре-октябре.

Наименьшее количество флавоноидов (не более 1%) наблюдалось у почек *Betula pendula* (март-апрель).

На освещенном местообитании (биостанция КФУ) в течение всего вегетационного периода наблюдается снижение содержания флавоноидов.

Собранное в течение весны и лета сырье, соответствует по суммарному содержанию флавоноидов требованиям нормативных документов (не менее 2%) [7, 8], однако наибольшее их количество содержится в листьях, заготовленных в мае, и превышает в среднем на 40-50% содержание флавоноидов в сырье, заготовленном в рекомендуемые сроки.

Также обнаружена тенденция подъема содержания флавоноидов октябре месяце. Вероятно, опад также можно использовать в качестве лекарственного сырья.

В затененных местообитаниях в листьях *Betula pendula* флавоноидов накапливается больше, чем в освещенных (~ на 20%).

Полученные результаты по динамике накопления флавоноидов в листьях *B. pubescens* представлены на рисунке 2.

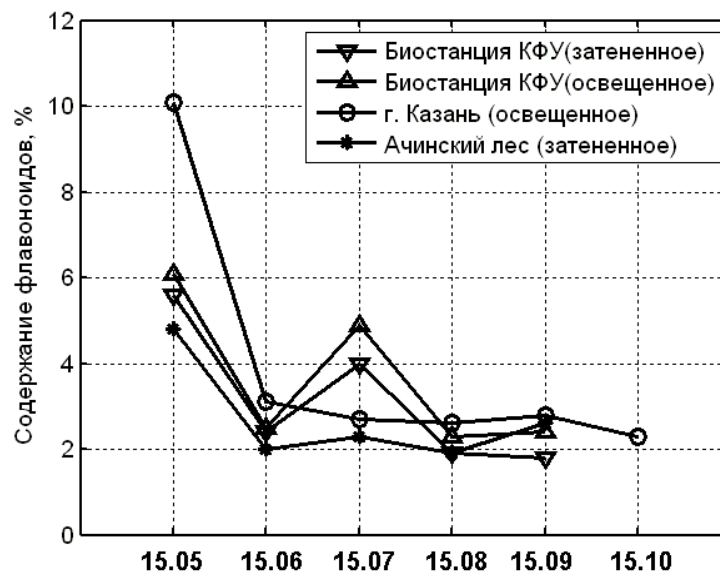


Рис. 2. Содержание флавоноидов в листьях *B. pubescens*

Четко выражена тенденция подъема содержания флавоноидов в листьях *Betula pubescens* трижды в течение вегетации – в мае, июле и сентябре.

В листьях *Betula pubescens* флавоноидов накапливается больше, чем в листьях *Betula pendula* (~на 35%). Максимальное количество флавоноидов содержат образцы, собранные в мае (в среднем на 40-50% больше, чем в сырье, заготовленном в рекомендуемые сроки). В отличие от *Betula pendula*, не наблюдается тенденции подъема суммы в октябре. В освещенных местообитаниях в листьях *Betula pubescens* флавоноидов накапливается больше, чем в затененных (~ на 30%).

Наименьшее количество флавоноидов (не более 2,6%) содержали почки *Betula pubescens* (март-апрель).

Полученные данные обрабатывались с помощью методов математической статистики, в частности, для сравнения результатов, полученных для затененных и освещенных мест, использовался t-критерий Стьюдента. Для большинства периодов наблюдений можно утверждать с вероятностью погрешности $\leq 0,05$, что условия освещенности оказывают определенное влияние на количество флавоноидов.

Коэффициенты вариаций количественного содержания флавоноидов в разные периоды наблюдений не превышали 7,4 %.

В целом можно сделать вывод, что для исследуемой территории наиболее оптимальным сроком заготовки сырья является май, а не июнь-июль, рекомендуемые нормативными документами [7, 8].

Анализ водно-спиртовых извлечений показал различия в качественном составе флавоноидов в листьях и почках *B. pendula* и *B. pubescens* (таб. 1).

Таблица 1

Качественный состав флавоноидов в листьях и почках *V. pendula* и *V. pubescens*, (Rf в системе 15% CH₃COOH (первое направление)/БУВ (4:1:2) (второе направление))

Вещество	<i>V. pendula</i>		<i>V. pubescens</i>	
	листья	почки	листья	почки
гликозиды				
Г1 (гиперозид)	0,36/0,54 (0,37/0,52)	---	0,36/0,54 (0,37/0,52)	---
Г2	0,43/0,59	---	0,43/0,59	---
Г3	0,46/0,70	---	0,46/0,70	---
Г4	0,26/0,36	---	0,26/0,36	---
Г5	0,52/0,74	---	---	---
Г6	0,27/0,56	---	---	---
агликоны				
А1 (кверцетин)	0,05/0,93 (0,05/0,92)	0,05/0,93 (0,05/0,92)	0,05/0,93 (0,05/0,92)	0,05/0,93 (0,05/0,92)
А2	0,15/0,96	0,15/0,96	0,15/0,96	0,15/0,96
А3	0,04/0,75	0,04/0,75	0,04/0,75	0,04/0,75
А4	0,04/0,67	0,04/0,67	0,04/0,67	0,04/0,67
А5	0,12/0,91	0,12/0,91	---	---
А6	---	---	0,37/0,98	0,37/0,98

На хроматограмме водно-спиртового извлечения из листьев *V. pendula* обнаружено 11 пятен. Из них 6 по хроматографическому поведению отнесены нами к гликозидам, 5 – к агликонам. С использованием веществ-свидетелей идентифицировано 2 пятна: гиперозид (вещество Г₁) и кверцетин (вещество А₁), с соответствующими Rf: 0,36/0,54; 0,05/0,93. Рутин в извлечениях из листьев *V. pendula* не обнаружен.

На хроматограмме водно-спиртового извлечения из листьев *V. pubescens* обнаружено 9 пятен. Из них 4 отнесены нами к гликозидам, 5 – к агликонам. С использованием веществ-свидетелей идентифицировано 2 пятна: гиперозид (вещество Г₁) и кверцетин (вещество А₁), с соответствующими Rf: 0,36/0,54; 0,05/0,93. Рутин в извлечениях из листьев *V. pubescens* не обнаружен.

Другие вещества (Г₂, Г₃, Г₄, Г₅, Г₆, А₂, А₃, А₄, А₅, А₆) не были идентифицированы, в связи с отсутствием веществ-свидетелей.

В почках *V. pendula* и *V. pubescens* флавоноиды представлены лишь агликонами. Преобладающими флавоноидами являются кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

В листьях *V. pendula* флавоноиды представлены как гликозидами, так и агликонами. Преобладающими флавоноидами являются гиперозид (вещество Г₁), вещества Г₂, Г₃, Г₄, кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

В листьях *V. pubescens* флавоноиды представлены как гликозидами, так и агликонами. Преобладающими флавоноидами являются гиперозид (вещество Г₁), вещества Г₂, Г₃, кверцетин (вещество А₁) и вещество А₂.

Таким образом, из анализа представленных данных следует, что качественный состав флавоноидов листьев и почек *B. pendula* и *B. pubescens* различен. В листьях *B. pendula* обнаружены флавоноиды гликозилированной формы, не встречающиеся в листьях *B. pubescens* (вещества Г₅, Г₆). Также различен качественный состав агликонов. В листьях и почках *B. pendula* обнаружено вещество А₅, отсутствующее в листьях и почках *B. pubescens*. В листьях и почках *B. pubescens* обнаружено вещество А₆, отсутствующее в листьях и почках *B. pendula*.

Исследования показали, что условия местообитания растений (затененное или открытое) не влияют на качественный состав флавоноидов в их листьях и почках. Качественный состав флавоноидов остается неизменным в течение всего периода вегетации.

Выявлено, что количественное содержание флавоноидов в листьях и почках *B. pubescens*, в целом, выше, чем у *B. pendula*, что же касается качественного состава флавоноидов, наоборот, у *B. pendula* он богаче.

Поскольку качественный состав флавоноидов в почках *Betula* L существенно беднее, а количественное содержание флавоноидов в них значительно ниже, чем в листьях *Betula* L., представляется оправданной существующая в нормативной документации стандартизация листьев березы по содержанию флавоноидов, а почек – по содержанию эфирного масла.

Заключение

1. Максимальное накопление флавоноидов в листьях *Betula* L., на исследованной территории наблюдается в мае, который и является оптимальным сроком для заготовок этого сырья.

2. Для качественного состава флавоноидов в листьях *Betula* L., на исследованной территории характерным является отсутствие рутина, одного из доминирующих флавоноидов для *Betula pendula* и *Betula pubescens*.

3. Фактор освещенности на накопление флавоноидов в листьях *Betula pendula* и *Betula pubescens* действует разнонаправлено – для *Betula pubescens* увеличивает их содержание, для *Betula pendula* – снижает.

Литература

1. Куцик Р.В., Зузук Б.М. Береза бородавчатая (Береза повислая) // Провизор. - 2001. №10. - С. 17-20.
2. ФСП 42-0171175201 Сибектан таблетки / ГУП «ПЭЗ ВИЛАР» – Введ. 26.09.01. М., 2001. 8 с.
3. Шевырева Н.А. Береза – дерево контрастов // Вестник цветовода. - 2006. №11(55). - С. 8-9.
4. Почки березовые: [фармакоп. ст.] // Государственная Фармакопея СССР. – 11-е изд.: в 2 вып. / МЗ СССР. – Вып. 2: Лекарственное растительное сырье. – М.: 1989. – С. 298.
5. ФСП 42-0309624905 Березы почки / ОАО «Красногорсклексредства» – Введ. 27.10.06. М., 2006. 11 с.

6. Стеняева В.В. Сравнительное фитохимическое исследование лекарственного растительного сырья березы бородавчатой (*Betula verrucosa* Ehrh.) Автореферат дис. ... канд. фармацев. наук. – Самара, 2005. – 24 с.

7. ВФС 42-2487-95 Листья березы / Фармакопейный государственный комитет. – Введ. 02.07.96. – М., 1996. – 8 с.

8. ФСП 42-8679-07 Березы листья / ОАО «Красногорсклексредства» – Введ. 18.06.07. М., 2007. 14 с.

Сведения о каждом из авторов статьи

Демина, Галина Владимировна – к.б.н., доцент, доцент кафедры ботаники биолого-почвенного факультета Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *deminagv@mail.ru*, т.с. – 8917-248-69-22

Хазиев, Рамиль Шамилович – к.б.н., доцент, доцент кафедры фармакологии фармацевтического факультета с курсами фармакогнозии и ботаники Казанского государственного медицинского университета.

E-mail: *xaziev@inbox.ru*

Егорова, Регина Валентиновна – м.н.с. Ботанического сада при Казанском (Приволжском) федеральном университете.

E-mail: *ReginaValentinovna@mail.ru*

Summary

G.V. Demina, R.Sh. Khaziev, R.V. Egorova. Features of Accumulation and Qualitative Composition of Flavanoids.

The aim of the study was to examine the content and qualitative composition of flavonoids in the leaves and buds of *Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh., grown in different environments. Flavonoids qualitative composition, quantitative content and dynamics of accumulation in leaves and buds of *Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh., grown in Tatarstan Republic, have not been studied before. As the results of this research flavonoids accumulation dynamics in crude drugs was determined, qualitative and quantitative compositions of flavonoids were characterized, flavonoids content differences in *Betula* L. species were shown. The effects of lightening conditions on the quantitative composition of flavonoids were revealed. At the same time the qualitative composition of flavonoid was not affected by the lightening conditions considerably. The periods of highest flavonoids concentration in the leaves and buds of studied species were determined. The differences in flavonoids contents in leaves and buds were demonstrated. Optimal time points of crude drugs procurements were specified.

Key words: flavonoids, qualitative composition, quantitative composition, birch, leaves, buds

References

1. *Kucik R.V., Zuzuk B.M.* *Betula verrucosa* (*Betula pendula*) // *Provizor.* - 2001. №10. - P. 17-20. (In Russian).
2. FSP 42-0171175201 *Sibektan Tablets* / GUP «PEZ VILAR» – Start-up 26.09.01. M., 2001. 8 p. (In Russian).
3. *Shevireva N.A.* Birch – Contrast Tree // *Vestnik cvetovoda.* - 2006. №11(55). - P. 8-9. (In Russian).
4. Bud of Birch: [pharmacop. art.] // *State Pharmacopeia USSR.* – 11 ed.: in 2 issue. / MZ USSR. – Issue 2: Medicinal Vegetable Raw Material. – M.: 1989. – P. 298. (In Russian).
5. FSP 42-0309624905 *Bud of Birch* / OAO «Krasnogorskleksredstva» – Start-up 27.10.06. M., 2006. 11 p. (In Russian).
6. *Steniaeva V.V.* Comparative Phytochemical Research of Medicinal Vegetable Raw Material of *Betula verrucosa* Ehrh. / *Autoreferat dis. ... cand. farmacev. nauk.* – Samara, 2005. – 24 p. (In Russian).
7. VFS 42-2487-95 *Leafs of Birch* / *Pharmacopeia State Committee.* – Start-up 02.07.96. – M., 1996. – 8 p. (In Russian).
8. FSP 42-8679-07 *Leafs of Birch* / OAO «Krasnogorskleksredstva» – Start-up 18.06.07. M., 2007. 14 p. (In Russian).

Сведения о каждом из авторов статьи (на англ. яз.)

Demina, Galina Vladimirovna – Ph.D. in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Botany of the Faculty of Biology and Soil, Kazan (Volga Region) Federal University.

E-mail: *deminagv@mail.ru*, т.с. – 8917-248-69-22

Khaziev, Ramil Shamilevich – Ph.D. in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmacology of the Pharmaceutical Faculty with a course of Pharmacognosy and Botany, Kazan State Medical University.

E-mail: *xaziev@inbox.ru*

Egorova, Regina Valentinovna – Junior Scientific Researcher of the Botanic Garden, Kazan (Volga Region) Federal University.

E-mail: *ReginaValentinovna@mail.ru*